

JAPHAC



japhac.wix.com/japhac
ISSN 2358-3495

Review Article/Artigo de Revisão

Received 29 Jun 2015;

Revised 13 Jul 2015;

Accepted 20 Jul 2015;

Published online: 12 Aug 2015

Análises Microbiológicas, Físico-químicas e Bioquímicas de Amostras de Leites Comercializados em Minas Gerais

Isis Sturzeneker Lemgruber¹, Eder Lopes Silva¹, Elaíne Batista Barbosa¹, Maria Imaculada Natália Camargos¹, Pedro Henrique Ferreira Marçal^{2,3*}.

1 – Farmacêuticos graduados pela Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, MG, Brasil. 2 – Laboratório de Bioquímica, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, MG, Brasil. 3 – Grupo de Pesquisa em Farmacologia Integrada e Interações Medicamentosas (GPqFAR), Brasil. *Autor correspondente: ✉ phfmarcal@gmail.com

RESUMO: O leite é um dos alimentos mais consumidos no mundo e por pessoas de todas as faixas etárias, portanto, para garantir a qualidade deste produto e a segurança de seus consumidores os órgãos regulamentadores definem alguns padrões físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos que devem ser seguidos por seus produtores. O objetivo deste estudo foi analisar a qualidade microbiológica, físico-química e bioquímica do leite pasteurizado comercializado em Governador Valadares / MG, verificar se encontravam dentro dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa Nº 51, de 4 de novembro de 2011 do Ministério da Agricultura. Foram coletadas três marcas diferentes de leite pasteurizados em um supermercado de Governador Valadares e realizadas análises de acidez, proteína, lipídeos além de análises microbiológicas para coliformes totais, *Salmonella* spp., fungos e leveduras. Das três amostras analisadas todas apresentaram valores de ácido láctico maiores que o permitido pela legislação vigente (0,14 a 0,18 g/100ml), proteínas e lipídios estão dentro do mínimo exigido e quanto aos microrganismos, fungos foram encontrados na análise da marca C. Com relação aos resultados obtidos, faz-se, dessa forma, a necessidade da melhor orientação e inspeção do leite, para se detectar falhas no beneficiamento, para obtenção de um produto final seguro e de qualidade ao consumidor. **Palavras-chave:** Leite Pasteurizado, Qualidade Microbiológica, Físico-Química, Bioquímica.

ABSTRACT: (Microbiological, Physicochemical and Biochemical Analysis of milk samples marketed in Minas Gerais) Milk is one of the most consumed foods in the world and by people of all ages, therefore, to maintain the quality of this product and the safety of their consumers, regulators define some physicochemical, biochemical and microbiological standards, that must be followed by its producers. The objective of this study was to analyze the microbiological, physicochemical and biochemical quality of the pasteurized milk sold in Governador Valadares/MG. To check if they were within the parameters established by the Normative Instruction Nº. 51 of November 4 th 2011 of the Ministry of Agriculture. It was collected three different brands of pasteurized milk in a supermarket in Governador Valadares. Acidity analysis were performed; protein, fat as well as microbiological analysis for total coliforms, *Salmonella* spp., fungi and molds. Of the three samples analyzed all of them presented lactic acid levels greater than permitted by law (0.14 to 0.18 g / 100ml), proteins and lipids were within the minimum required and for micro-organisms, fungi were found in the brand C. With regarding of the results for brand analysis, it is thus the need for better orientation and the milk inspection, to detect failures in the processing for achieving a final product safety and quality to the consumer.

Keywords: Pasteurized Milk, Microbiological Quality, Physicochemical, Biochemistry.

Introdução

O leite é um dos produtos mais importantes do agronegócio brasileiro

(Martins, 2003) e seu alto valor nutricional transforma a sua produção e eleva sua importância tanto do lado econômico como

social, beneficiando a saúde da população como também no que se diz respeito à geração de empregos e benefícios que traz a saúde da população (Tomelin, 2002).

Presente em todos os estados brasileiros, a produção de leite tem seu grande destaque em Minas Gerais que contribui com 30% da produção no país, sendo essa atividade praticada em todas as regiões mineiras, principalmente no interior, em propriedades rurais (Marcatti-Neto et al., 2007).

O leite apresenta excelente valor nutritivo devido ao seu teor de proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas, sais minerais e água (Hoffmann et al., 1998), sendo sua qualidade nutricional estreitamente relacionada com suas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas (Mujica et al., 2006). Entretanto, pela sua riqueza em nutrientes, constitui um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de um grande número de microrganismos, inclusive patogênicos. Tanto a qualidade quanto a conservação deste alimento estão diretamente relacionados com a sua carga microbiana (Timm et al., 2003), sendo assim, a qualidade do leite é uma constante preocupação para técnicos e autoridades ligadas à área de saúde, principalmente pelo risco de doenças de origem alimentar

veiculados a esses microrganismos (Leite et al., 2000; Timm et al., 2003).

A obtenção do leite, no Brasil, se dá de forma deficiente no tocante à higiene, apresentando assim altas contagens de colônias de bactérias, sendo confirmada de acordo com o número e tipos de colônias encontradas no alimento, o que é explicado pela não observância das normas de higienização e refrigeração, técnicas que garantem o controle de patógenos nos alimentos. Caso o controle não seja efetuado a contento, o alimento se torna fator de risco para quem o consome (Cerqueira 1994). Sendo assim, o controle de qualidade se torna indispensável em todas as etapas de liberação do leite, ou seja, desde a sua obtenção até a distribuição para que não corra o risco de contaminações que poderão causar doenças ao ser humano, uma vez que a qualidade do leite está relacionada com a presença de microrganismos patogênicos indicadores de higiene. Dentre esses, tendo-se como referências a *Salmonella* spp., coliformes e alguns fungos. Muitos destes micro-organismos produzem enzimas extracelulares (proteases e lipases) termorresistentes que também irão afetar diretamente a qualidade do produto final, mesmo sem a presença de bactérias viáveis (Moura 2012; Yamazi et al., 2010).

As doenças de origem alimentar são produzidas pela ingestão de microrganismos patogênicos ou de agentes nocivos, veiculados através dos alimentos ou da água sendo diretamente relacionadas com o tempo e o lugar de exposição do alimento com outros contaminados, seja por microrganismos ou suas toxinas. Dentre os microrganismos mais frequentes no leite, podem-se encontrar fungos e leveduras, *Escherichia coli*, predominante das fezes dos animais, o *Enterococcus faecalis*, a *Salmonella* spp., e outros como os causadores de tuberculose, brucelose e leptospirose, por exemplo (Paschoa, 1997).

Este trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e bioquímica de algumas marcas de leite pasteurizado comercializadas em Governador Valadares quanto à presença de *Salmonella* spp., coliformes totais, fungos e leveduras, verificando se as quantidades dos mesmos estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente.

Metodologia

Obtenção e preparação das amostras

Foram analisadas três diferentes marcas (identificadas como A, B e C) de leite pasteurizado do tipo C. As amostras foram obtidas em um supermercado de

Governador Valadares – MG, da maneira como estavam expostas ao consumidor. Os produtos se encontravam em refrigerador a uma temperatura de -4°C e foram transportados em suas embalagens originais, não violadas em um recipiente adequado, termicamente isolado, aos Laboratórios de Bioquímica e Microbiologia da Universidade Vale do Rio Doce e logo após analisadas. A importância desse procedimento reside na necessidade de se conservar as características de apresentação do produto.

As amostras de leite foram retiradas de suas embalagens originais dentro da capela, desinfetadas com álcool 70 % para a remoção de contaminantes presentes, utilizando tesouras estéreis e transferidas para béqueres individuais, devidamente identificados. Após esse procedimento as amostras foram então homogeneizadas com auxílio de bastão de vidro.

Análises físico-químicas

O parâmetro físico-químico analisado foi a acidez total titulável (ATT), ácido láctico, seguindo a metodologia convencional recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz onde foram observados os parâmetros físicos - químicos das amostras de leite pasteurizados, sendo o valor de

referência aceitável pela legislação vigente 0,14g a 0,18g de ácido láctico por 100mL (Brasil, 2005).

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas seguiram as metodologias da Apha – American Public Health Association (2001) (Silva; Junqueira; Silveira, 2001) que é uma das metodologias sugeridas para análise de alimentos pela RDC, n. 12, de 2 de Janeiro de 2001 (Brasil, 2001). Foram realizadas as seguintes análises: determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, *Samonella* spp., fungos e leveduras, sendo os valores de referência aceitáveis pela legislação 1/g, ausência em 25g e máximo 1×10^3 UFC/g respectivamente (Brasil, 2001).

Análises bioquímicas

Os parâmetros bioquímicos analisados foram os teores de lipídios e proteína presentes na amostra utilizando-se a metodologia recomendada pelo Instituto

Adolfo Lutz, sendo os valores de referência aceitável pela legislação acima de 2,9% para proteínas e acima de 3% para lipídeos (Brasil, 2005).

Resultados e Discussão

Análises físico-químicas

Em relação à acidez total titulável (ATT) em ácido láctico, as amostras de leite pasteurizados analisados apresentaram valores superiores ao aceitável pela legislação que preconiza um limite de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico /100 ml (Brasil, 2005), conforme indicado na Tabela 1.

Esses resultados indicam que provavelmente não houve uma refrigeração imediata logo após a pasteurização, ou ainda devido à falta de higiene durante a produção. Segundo Oliveira, Nunes e Abreu (2003), a acidez elevada no leite pode ser resultado da acidificação da lactose, provocada pela multiplicação de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos.

Tabela 1- Acidez total titulável de amostras de leite pasteurizadas.

	Volume 1	Volume 2	Volume 3	Volume médio	S	ATT
Marca A 14,7	15,0	17,0		15,6	1,25	0,56
Marca B 13,6	15,0	18,0		15,5	2,25	0,56
Marca C 14,0	15,6	19,0		16,2	2,55	0,58

* Padrão da legislação: 0,14 a 0,18 g/100ml; S - Desvio padrão; ATT – Acidez total titulável

Análises microbiológicas

De acordo com os resultados das análises realizadas com amostras de leite pasteurizado comercializados em Governador Valadares (Tabela 2), a ausência de coliformes fecais foi evidenciada no presente estudo, pela não produção de gás nos tubos de Durham da inoculação em caldo LST de todas as amostras de leite pasteurizado analisadas, lidas em 24hs e 48hs de incubação, porém o perfil de contaminação encontrado nesta pesquisa não se assemelha aos obtidos por Oliveira, Nunes e Abreu (2003) e Andurand et al. (2004), que detectaram contaminação por coliformes totais a 45 °C em 44% das amostras de leite pasteurizado tipo C comercializadas em Terezina.

Já Polegato e Rudge (2003), evidenciaram elevada contagem de coliformes totais em 93% das amostras de leite produzidas por mini usinas da Região de Marília, São Paulo.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp. a legislação (Brasil, 2001) especifica ausência em 25g, sendo que todas as amostras avaliadas neste estudo estavam de acordo com o preconizado, sendo que resultados semelhantes foram obtidos por vários pesquisadores (Tessari; Cardoso, 2002; Macedo; Pflanzner Jr., 2003; Marques;

Coelho Jr.; Soares, 2005). Entretanto, Hoffmann et al. (1999) detectaram a presença deste microrganismo em 21% das amostras analisadas de leite pasteurizado tipo C comercializado em São José do Rio Preto - SP.

Em relação à análise de leveduras e fungos, foi observado que a marca C apresentou contagem a mais do que o aceitável pela legislação (Brasil, 2001), sendo que todas as outras se apresentaram dentro do limite permitido. Segundo Torkar e Vengust (2008) avaliaram 60 amostras de leite cru e detectaram leveduras e fungos, respectivamente, em 95% e 63,3% das amostras após a pasteurização. Por sua vez, Melville et al. (2006) analisaram 70 amostras de leite, tendo isolado em diferentes percentagens leveduras e fungos a partir de todas as amostras analisadas. De acordo com Fleet e Mian (1987), há relatos que associam a ingestão de alimentos contaminantes por leveduras e fungos com ocorrências de afecções em humanos. Estes microrganismos podem estar presentes no leite devido a contaminação de medicamentos para mastite, por antimicrobianos e higienização das mãos do ordenhador (Crawshaw et al. 2005; Williamson et. al. 2007), que facilitam a contaminação do leite por esses

microrganismos dos quais podem causar alteração físico-químico do mesmo, limitando sua durabilidade e de seus derivados, além de determinar problemas

econômicos e de saúde pública (Andrade MA. 2001). Os resultados das análises microbiológicas do leite pasteurizado estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Contagem de coliformes totais, *Salmonella* spp., fungos e leveduras em amostras de leite pasteurizado.

	Padrão da legislação	Marca A	Marca B	Marca C
Contagem de coliformes totais NMP/g 24h	Máx. 1/g	-	-	-
Contagem de coliformes totais NMP/g 48h	Máx. 1/g	-	-	-
Contagem de <i>Salmonella</i> spp. 25/g	Ausência em 25g	-	-	-
Contagem de fungos e leveduras UFC/g	Máx. 1×10^3 UFC/g	05x10	1,2x10	1,2x10 ³

– = ausente; NMP = número mais provável; UFC = unidades formadoras de colônias

Análises bioquímicas

De acordo com os valores apresentados na Tabela 3, 100% das amostras encontravam-se dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa MAPA Nº 51 de 04 de novembro de 2011 para proteínas, com valores acima de 2,9%. Em estudo realizado por Lima et al. (2006), em amostras de leite da região agreste do Estado de Pernambuco, observaram-se que todas as 301 amostras analisadas apresentaram médias elevadas (3,06 a 3,12%) de proteína. Atualmente a proteína do leite tem sido um dos critérios de pagamento do leite por qualidade, pois o teor de proteína aumenta o rendimento industrial principalmente para a fabricação de queijo.

O teor de lipídios das amostras de leite analisado também estava dentro dos padrões

exigidos pela legislação (Tabela 4), porém resultados diferentes foram encontrados por Andrade et al. (2006) ao analisarem 12 amostras de leite pasteurizado comercializado na Cidade de Araguari, MG.

Foi observado que 8 (66,66%) amostras apresentaram teores de gordura abaixo do padrão desejável de, no mínimo, 3% (Brasil, 2002), e 5 amostras (41,5%) indicaram valores menores do que o estabelecidos, o que pode ser indicativo de fraude por adição de água. Enquanto Silva (2002) observou que 70% das amostras apresentaram um teor de gordura inferior a 3%, com variação entre 2,0% e 3,0%. A redução da gordura compromete diretamente o rendimento industrial, principalmente em relação à

fabricação de queijos, pois contribui para a consistência dos produtos derivados.

Tabela 3 – Quantificação de Proteínas em amostras de leite pasteurizado.

	PTN da amostra (g/100g)	S	Padrão da legislação (mín. g/100g)
Marca A	10,6	0,25	2,9
Marca B	8,8	1,0	2,9
Marca C	9,0	0,3	2,9
S – Desvio padrão			Fonte: Brasil, 2005.

Tabela 4 - Quantificação de Lipídios em amostras de leite pasteurizado.

	LIP da amostra (g/100g)	S	Padrão da legislação (mín. g/100g)
Marca A	30	2,8	3,0
Marca B	42	2,1	3,0
Marca C	32	1,6	3,0
S – Desvio padrão			Fonte: Brasil, 2005.

Conclusão

Do total das amostras analisadas, todas se apresentaram dentro dos padrões aceitáveis da legislação quanto às análises bioquímicas de proteína e lipídios. Apenas a marca C se apresentou fora dos padrões vigente pela legislação nas análises microbiológicas, e todas se apresentaram fora dos padrões em relação as análises físico- química.

A característica físico-química avaliada indica uma possível deficiência de

higiene no momento de fabricação como também a presença de alguns microrganismos patogênicos.

A qualidade microbiológica deficiente do produto indica que este monitoramento é uma etapa importante, concomitantemente à implantação de ações corretivas. A implantação de programas de boas práticas de fabricação, análise de perigos e pontos críticos de controle irá permitir que seja assegurada a inocuidade do produto.

Faz-se, dessa forma, a necessidade da melhor orientação e inspeção do leite, para se detectar falhas no beneficiamento, para obtenção de um produto final seguro e de qualidade ao consumidor.

Referências

- Andrade MA. Mastite bovina sub-clínica: prevalência, etiologia e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas. *A Hora Veterinária*. 2001; 19-26.
- Andrade RB, Oliveira RP, Rodrigues MAM. Análises físico-químicas do leite pasteurizado e comercializado na cidade de Araguari – MG. In: Congresso Brasileiro De Qualidade Do Leite. 2006; 2:.
- Andurand MDTB. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de leite pasteurizado tipo C", fornecido às creches municipais da cidade do Recife. In: Congresso Brasileiro De Ciência E Tecnologia De Alimentos. 2004; 19:.
- Apha – American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2001; 676.
- Brasil. Resolução RDC ANVISA/MS n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília. 2001; I(1).
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, Tipo B, Tipo C e Cru Refrigerado. Brasília: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. 2002.

- Brasil. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instituto Adolfo Lutz. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Brasil: Ministério da Saúde. 2005; 819-877.
- Cerqueira MMO. Características microbiológicas de leite cru e beneficiado em Belo Horizonte (MG). Arq. bras. med. vet. Zootec. 1994; 46(6): 713-21.
- Crawshaw WM, MacDonald NR, Duncan G. Outbreak of *Candida rugosa* mastitis in a dairy herd after intramammary antibiotic treatment. Veterinary record. 2005; 156(25): 812-813.
- Fleet GH, Mian MA. The occurrence and growth of yeasts in dairy products. International journal of food microbiology. 1987; 4(2): 145-155.
- Hoffmann FL. Qualidade microbiológica do leite consumido em São José do Rio Preto, SP. Indústria de Laticínios. 1998; 4(46): 67-72.
- Hoffmann, FL. et al. Microbiologia do leite pasteurizado tipo C, comercializado na região de São José do Rio Preto-SP. Revista Higiene Alimentar. 1999; 13(65): 55.
- Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 1985, (1): 203-214.
- Leite AFS, Torrano ADM, Gelli DS. Qualidade microbiológica do leite tipo C pasteurizado, comercializado em João Pessoa, Paraíba. Revista Higiene Alimentar. 2000; 4(74): 45-49.

Lima MCG, et al. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo c produzido na região agreste do estado de Pernambuco. Arquivos do Instituto Biológico. 2006; 73(1): 89-95.

Macedo REF, Pflanze Jr SB. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo C comercializado na região metropolitana de Curitiba. Simpósio Latino Americano De Ciência De Alimentos. 2003.

Marques MS, Coelho Jr LB, Soares PC. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C processado no estado de Goiás. Congresso Latino-Americano e VII Brasileiro de Higienistas de Alimentos. 2005.

Martins, M.C. Agronegócio do leite. Informe econômico do leite. 2003; 2.

Melville PA, et al. Ocorrência de fungos em leite cru proveniente de tanques de refrigeração e latões de propriedades leiteiras, bem como de leite comercializado diretamente ao consumidor. Arq. Inst. Biol. 2006; 73(3): 295-301.

Moura LB. Análise microbiológica de leite pasteurizado tipo C destinado ao programa leite é saúde no Ceará. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. 2013; 7(5): 87-90.

Mujica PYC, Anjos ES, Carneiro PH, Sales PVG, Silva JVG, Costa JCDPP. Avaliação da qualidade físico-química do leite pasteurizado tipo “C” comercializado no município de Palmas – TO. In: Congresso Brasileiro De Qualidade Do Leite, 2., 2006. Goiânia. *Anais*. Goiânia, 2006.

- Neto AM. Diagnóstico da Pecuária Leiteira do Município de Barroso. 2007; 6-9.
- Oliveira MMA, Nunes IFS, Abreu MC. Análise microbiológica e físicoquímica do leite pasteurizado tipo C comercializado em Teresina-PI. *Rev Hig Alim.* 2003; 17(111): 92-4.
- Paschoa MF. A importância de se ferver o leite pasteurizado tipo C antes do consumo. *Revista Higiene Alimentar.* 1997; 11(52): 24-8.
- Polegato EPS, Aristides CR. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília-São Paulo/Brasil. *Hig. Aliment.* 2003; 17(110): 56-63.
- Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 2001; 317.
- Silva, SRNC. Avaliação da qualidade físico-química do leite pasteurizado tipo C de um estabelecimento com certificação federal no estado do Maranhão. Monografia (Graduação)-Universidade Estadual do Maranhão, São Luís. 2002.
- Tessari ENC, Cardoso ALSPC. Qualidade microbiológica do leite tipo A pasteurizado, comercializado em cidade de Descalvado, SP. *Revista Higiene Alimentar.* 2002; 16(96): 65-68.
- Timm CD, et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado integral, produzido em microusinas da região sul do Rio Grande do Sul. *Hig. Aliment.* 2003; 17(106): 100-104.
- Tomelin HHS. Efeitos econômicos das transformações na produção de leite de Minas Gerais nos anos 90. Dissertação (Mestrado em Economia aplicada).Viçosa: UFV, 2002.

Torkar KG, Anton V. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M₁ in raw milk and cheese in Slovenia. Food Control. 2008; 19(6): 570-577.

Williamson JH, Di Menna ME. Fungi isolated from bovine udders, and their possible sources. New Zealand veterinary journal. 2007; 55(4): 188-190.

Yamazi AK, et al. Práticas de produção aplicadas no controle de contaminação microbiana na produção de leite cru. Bioscience Journal. 2010; 26(4): 610-618.